



IKER
GAZTE
NAZIOARTEKO
IKERKETA EUSKARAZ

III. IKERGAZTE NAZIOARTEKO IKERKETA EUSKARAZ

2019ko maiatzaren 27, 28 eta 29
Baiona, Euskal Herria

ANTOLATZAILEA:
Udako Euskal Unibertsitatea (UEU)

ZIENTZIAK ETA NATURA ZIENTZIAK

Ekialdeko Kantauriar Itsasoko
kostaldeko partikula
exopolimeriko gardenen (PEG)
urtean zeharreko bilakaera

*Ainhoa Uranga, Naiara Abad,
Iñigo Azua, Itxaso Artolozaga,
Zuriñe Baña, Marian Unanue
eta Begoña Ayo*

123-129 or.
<https://dx.doi.org/10.26876/ikergazte.iii.05.17>



Ekialdeko Kantauriar Itsasoko kostaldeko partikula exopolimeriko gardenen (PEG) urtean zeharreko bilakaera

Uranga, Ainhoa^{1*}; Abad, Naiara^{1*}; Azua, Iñigo¹; Artolozaga, Itxaso¹; Baña, Zuriñe¹; Unanue, Marian¹ eta Ayo, Begoña^{1,2}

*egile hauen ekarpena berdina izan zen

¹*Immunologia, Mikrobiologia eta Parasitologia saila. Zientzia eta Teknologia Fakultatea, Euskal Herriko Unibertsitatea, UPV-EHU*

²*Itsas Biologia eta Bioteknologia Esperimentalen Ikerketa Zentroa. PiE-UPV-EHU*

naiara.abad@ehu.eus

Laburpena

Partikula exopolimeriko gardenak (PEG) ozeanoetako zeluletatik kanpoko substantzia polimeriko ugariak dira. Karbonoaren ponpa biologikoan, aire-itsaso elkarrekintzan eta mikrobio-sareetan duten eragina dela eta, prozesu biogeokimikoetan eta ekologikoetan garrantzia handia dute. PEG-en sorrera biotikoa zein abiotikoa izan daitekeen arren, beraien iturri garrantzitsuena fitoplanktonak jariaturiko polisakaridoen koagulazioa da. Partikula hauen sortze- eta desagertze-prozesuen konplexutasun handiaren ondorioz, zaila da PEG-en bilakaera aurrerata. Lan honetan PEG-en kontzentrazioak eta bilakaera aztertu dira Armintzako itsas-estazioan, Ekialdeko Kantauriar Itsasoan kokatuta dagoena. Urte baten buruan 11 laginketa egin ziren, zeintzuetan PEG-en kontzentrazioaz gain, bestelako aldagai fisikoak, kimikoak eta biologikoak neurtu ziren, beraien arteko ustezko erlazioan sakontzeko asmoz. Sistema honetako PEG-en kontzentrazioaren faktore erregulatuak nagusienak *a* klorofiladun fototrofoen eta prokariotoen dentsitateak dira.

Hitz gakoak: partikula exopolimeriko gardenak (PEG), karbonoaren ponpa biologikoa, *a* klorofila, fototrofoak, prokarioto heterotrofoak, Ekialdeko Kantauriar Itsasoa.

Abstract

*Transparent exopolymer particles (TEPs) are the most abundant subclass of organic particles in the ocean. They have a high impact in biogeochemical cycles and ecological processes of the ocean, such as the biological carbon pump, air-sea interactions and the microbial loop. Although they are formed from different biotic and abiotic processes, coagulation of polysaccharides exuded by phytoplankton is their main source of production. The complexity in their production and consumption make TEP dynamics hardly predictable. In the present work, we study the TEP concentration and temporal evolution in the Armintza coastal station (Eastern Cantabrian Sea). In 11 seawater samples collected during one year, we measured the TEP concentration together with several physicochemical and biological parameters in order to detect any relationship among them. In this system, TEPs were closely related to and probably regulated by the abundances of phototrophic microorganisms rich in chlorophyll *a*, in particular *Synechococcus cyanobacteria*, and heterotrophic prokaryotes.*

*Keywords: Transparent exopolymer particles (TEP), biological carbon pump, chlorophyll *a*, phototrophs, heterotrophic prokaryotes, Eastern Cantabrian Sea.*

1. Sarrera eta motibazioa

Partikula exopolimeriko gardenak (PEG), fitoplanktonak eta prokarioto heterotrofoek ur ingurunera jariatutako exudatuaren agregazioaren ondorioz sorturiko partikula organiko abiotikoak dira (Alldredge et al., 1993). Oro har, 0,45-300 µm bitarteko tamaina izan dezakete (Passow, 2002) eta edozein ekosistema urtarretan ager daitezkeen arren, ozeanoetako ekosistema pelagikoetan dira ugariak. Gehienbat izaera azidoa duten mono- eta polisakaridoz

(karboxilaturiko edota sulfaturiko polisakaridoz) osatuta daude. Hori dela eta, Altzian urdinaren tindaketaren bitartez ikusgarriak dira eta ezaugarri fisiko-kimiko bereziak dituzte, likintasan handia besteak beste (Alldredge et al., 1993). Honi esker, inguruko konposatu organiko eta ez-organikoen agente-itsaskor bezala jardun dezakete egitura konplexuagoak (makropartikulak) sortuz (Passow eta Alldredge, 1994).

Itsas-ekosistemetan PEG-en eraketa bi modutan gerta daiteke. Alde batetik, modu abiotikoan, hazkuntza aktiboa duten edota seneszentzia fasean dauden mikroorganismoek jariatutako aitzindarien koagulazioaren ondorioz (Passow, 2002), eta bestetik, organismo planktoniko desberdinek (fitoplanktona, prokariotoak, protozoak eta birusak) PEG-en sorrera biologikoan parte har dezakete (Wurl et al., 2017). Hauen artean, fitoplanktona eta prokariotoak dira ekoizle nagusiak (Ortega-Retuerta et al., 2010). Hala ere, bibliografian aurki daitezkeen urtaroko bilakaerek ez dute eredu berdina jarraitzen. Adibidez, itsas-sistema batzuetan PEG-en kontzentrazioa eta *a* klorofilaren kontzentrazioa batera aldatzen direla ikusi den arren (Beauvais et al., 2003; Scoullon et al., 2006; Busch et al., 2017; Parinos et al., 2017), beste itsas-sistemetan ez da joera berdina ikusi (Bhaskar eta Bhosle, 2006; Taylor et al., 2014) edo urtean zehar sasoi batzuetan baino ez dira batera aldatu (Dreshchinskii eta Engel, 2017). Prokariotoen dentsitatea PEG-ekin erlazionatu bada ere, haien arteko erlazioa zehaztea konplexuagoa da, aldi berean hauen sortaileak (Guerrini et al., 1998) eta degradatzaileak (Bar-Zeev et al., 2011) izan daitezkeelako.

Itsas-gainazaletik partikula hauen desagerpena itsas-hondorantz gertatzen den garraioaren bidez edota degradazio-prozesuen bidez gerta daiteke. Degradazio-prozesuei dagokienez, fotolisiaren bidez (Ortega-Retuerta et al., 2009) edo prokariotoen zelulaz kanpoko jarduera entzimatikoen bidez (Smith et al., 1992) gertatzen da. Itsasoa oso sistema oligotrofikoa izanda eta partikula hauek karbonoan aberatsak direnez, prokariotoek aktiboki kolonizatu egiten dituzte elikagaiak lortzeko helburuarekin (Bar-Zeev et al., 2011; Taylor et al., 2014). Horrela, partikula hauei itsatsitako prokariotoek buruturiko zelulaz kanpoko liseriketa handiaren ondorioz, partikuletatik ingurunera elikagaiak barreiatzen dira fase likidoan dauden bizitza askeko prokariotoen hazkuntza-abiadura areagotuz (Simon et al., 2002).

2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Itsas-ekosistemetan PEG-en denbora luzeko behaketak egitea garrantzitsua da. Batetik, ziklo biogeokimikoen ezagutzan sakondu ahal izateko. Bestetik, kostaldeko ekosistemetan ingurumen-inpaktu handia izan dezaketelako (uraren kalitatean zuzenean eraginez edo gatzgabetzeko instalazioetan alderantzizko osmosi-iragazkiak asetuz) (Berman, 2013). Orain arte, mota honetako 5 ikerketa bakarrik ezagutzen ditugu eta oraindik partikula hauen erregulazioari buruzko emaitzak kontraesankorrak dira.

Lan honen helburu nagusia Armintzako kostaldeko estazioan partikula exopolimeriko gardenen (PEG) kontzentrazioa zehaztea eta beraien aldakortasunean zerikusia izan dezaketen aldagai fisiko-kimikoak eta biologikoak aztertzea izan da.

3. Ikerketaren muina

3.1. Laginketa eta aldagai desberdinen neurketa

Ekialdeko Kantauriar Itsasoan kokatuta dagoen Armintzako kostaldeko estazioan (43° 44' N, 2° 90' W) laginak hartu ziren 2017ko uztailetik 2018ko uztaileira arte, guztira 11 laginketa eginez. Itsas-azaleko ura jaso eta tenperatura, eroankortasuna eta gazitasuna neurtu ziren *in situ* eroankortasun neurgailua erabiliz. Ondoren, ura azido klorhidrikoarekin garbitutako polietilenoazko bidonetan eta iluntasunean eraman zen EHUKo Mikrobio Itsastarrak Ikerketa Taldeko laborategira.

Itsas-laginak karakterizatzeko, laborategian hainbat aldagaien neurketak egin ziren, hurrengo taulan adierazi direnak (1. taula).

1. taula. Itsas-laginak karakterizatzeko neurtu ziren aldagai fisiko-kimikoak, biologikoak eta fisiologikoak.

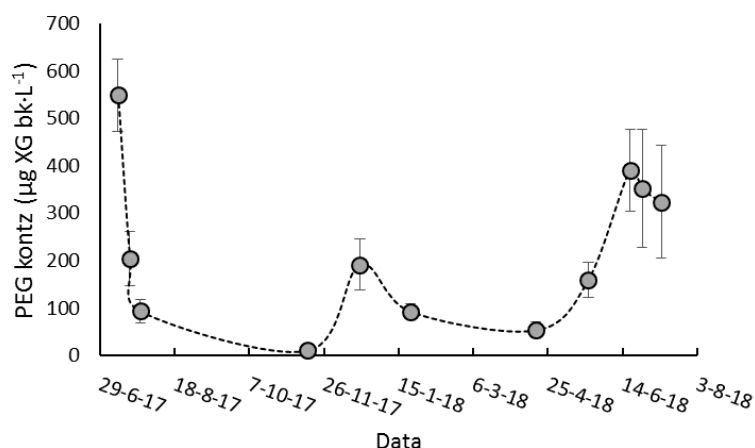
Aldagai fisiko-kimikoak	Aldagai biologikoak	Aldagai fisiologikoak
Temperatura (°C)	<i>a</i> klorofilaren kontzentrazioa (mg·m ⁻³)	Prokarioto heterotrofoen biomasaren ekoizpen-abiadura (µgC·L ⁻¹ ·egun ⁻¹)
Gazitasuna (ppt)	<i>Synechococcus</i> -en dentsitatea (zel·mL ⁻¹)	Prokarioto heterotrofoen arnasketa-abiadura (µgC·L ⁻¹ ·egun ⁻¹)
Eroankortasuna (µS·cm ⁻¹)	Nano- eta pikofitoplankton eukariotoaren dentsitatea (zel·mL ⁻¹)	Prokarioto heterotrofoen hazkunde-efizientzia (%)
Materia organikoaren fluoreszentzia (QSU)	Nanoflagelatu heterotrofoen eta prokariotoen dentsitateak (zel·mL ⁻¹)	Zelulaz kanpoko jarduera entzimatioko abiadura (nM·h ⁻¹)

3.2. PEG-en kontzentrazioaren urtean zeharreko aldakortasuna

PEG-en kontzentrazioaren kuantifikazioa metodo kolorimetrikoaren bidez egin zen Passow-ek eta Alldredge-k proposatu zuten bezala (1995). Honen arabera, 500-800 ml bolumeneko sei erreplika 0,45 µm-ko poro-tamaina zuten iragazkietatik pasarazi ziren PEG-ak kontzentratzeko eta Altzian urdinez tindatu ziren. Azido sulfurikoan disolbatu ondoren, espektrofotometroaren bidez absorbantziak neurtu ziren 787 nm-ko uhin-luzeran. PEG-en kontzentrazioa kalkulatzeko, Xantano Gomazko disoluzioaren absorbantzia-neurketetan oinarritutako kalibrazio-lerroa erabili zen. Emaitza gordinak µg Xantano Goma baliokide·L⁻¹ moduan (µg XG bk·L⁻¹) adierazi ziren.

Armintzako estazioan jasotako laginen PEG-en kontzentrazioek oso aldakortasun nabarmena adierazi zuten (1. irudia), balioak 11tik 549 µg XG bk·L⁻¹-rako kontzentrazio-tartean egon zirelarik. Urtean zeharreko bilakaeran, balioen hiru igoera nabarmen detektatu ziren: lehenengoa 2017ko uztailan ($\bar{x} = 549 \pm 44$ µg XG bk·L⁻¹), bigarren leunago bat abenduan ($\bar{x} = 191 \pm 24$ µg XG bk·L⁻¹) eta, azkenik, 2018ko udaberri bukaera-uda hasierakoa ($\bar{x} = 391 \pm 44$ µg XG bk·L⁻¹). Aipagarria da balio altu horien ondoren PEG-en kontzentrazioek beherakada handia izan zutela hiru kasuetan.

1. irudia. Armintzako estazioan hartutako laginen PEG-en batezbesteko (± d. e.) kontzentrazioaren bilakaera.

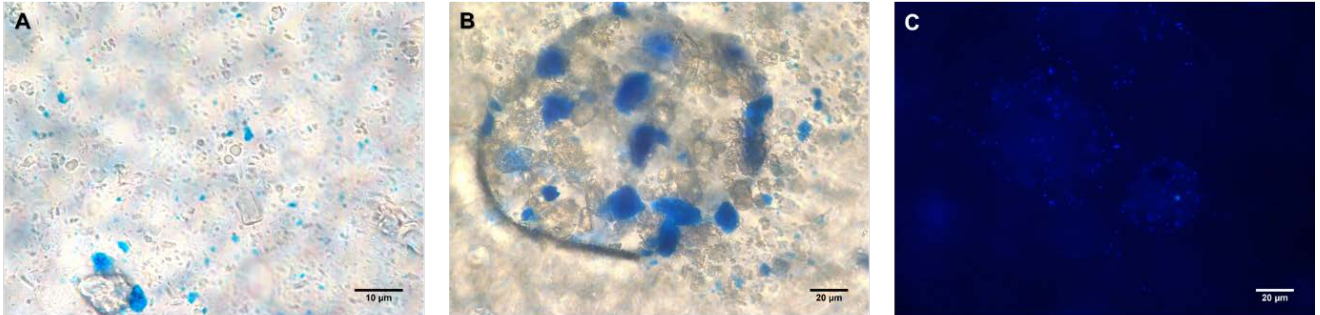


3.3. PEG-en behaketa mikroskopikoa

Altzian urdinez tindaturiko (Passow eta Alldredge, 1995) eta mikroskopio optikotik begiraturiko PEG-en irudietan ikus daitekeenez (2A eta 2B irudiak), sistema honetako partikula hauek oso tamaina aldakorrekoak izan ziren, <1 µm-tatik 100 µm baino handiagoetara hain zuzen ere. Horretaz gain, partikula hauek bi modutan ager daitezkeela ikusi zen, modu askean (2A irudia) edota beste izaeretako partikulei agregaturik (2B irudia), makroagregatuak sortuz.

Bestetik, DAPIz tindaturiko (Porter eta Feig, 1980) eta epifluoreszentzia-mikroskopiotik begiraturiko irudian (2C irudia), partikula hauetan prokariotoen oso dentsitate handiak zeudela hauteman zen.

2. irudia. Mikroskopia-mota desbesdinetan egindako PEG-en behaketak.



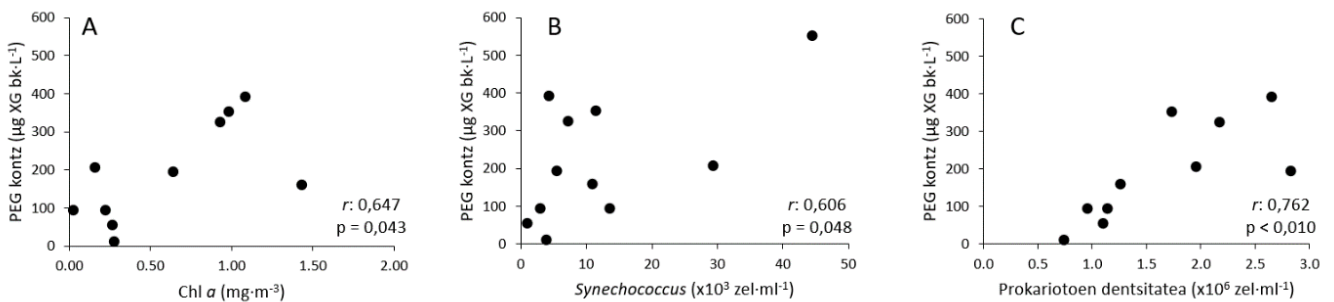
A eta B irudiak: mikroskopia optikoan egindako x1000 eta x400 behaketak, hurrenez hurren. C irudia: epifluoreszentzia-mikroskopioan egindako x400 behaketa.

3.4. PEG-en kontzentrazioaren eta aldagai desberdinen arteko korrelazioa

Partikula exopolimeriko gardenen kontzentrazioak ez zuen ingurumen-aldagai fisiko-kimikoekin korrelazio estatistiko esangarririk izan.

Aldagai biologikoei dagokionez, gure emaitzek adierazi zuten PEG-en kontzentrazioaren eta *a* klorofilaren kontzentrazioaren arteko korrelazio positibo estatistikoki esangarria zegoela ($p = 0,043$, 3A irudia). PEG-en kontzentrazioak *Synechococcus*-en dentsitatearekin ($p = 0,048$, 3B irudia) eta baita prokariotoen dentsitatearekin ($p < 0,01$, 3C irudia) ere izan zituen korrelazio positibo estatistikoki esangarriak. Aldiz, ez zen aurkitu korrelaziorik nano- eta pikofitoplankton eukariotoaren dentsitatearekin ezta nanoflagelatu heterotrofoen dentsitatearekin ere.

3. irudia. PEG-en kontzentrazioaren korrelazioa *a* klorofilaren kontzentrazioarekin eta *Synechococcus*-en eta prokariotoen dentsitateekin.



Emaitza hauek aldeztu aurretik egindako ikerketetan esandakoarekin bat zetozenez, ondoren PEG-en kontzentrazioaren eta *a* klorofilaren kontzentrazioaren, *Synechococcus*-en dentsitatearen eta prokariotoen dentsitatearen arteko erregresio anizkoitza kalkulatu zen, PEG-en agertze-desagertzearen erregulatzaile garrantzitsuenetatik eredu iragarria lortzeko asmoz. Lau aldagai hauen bilakaeran oinarrituta, hurrengo ekuazioa lortu zen:

$$PEG = -76 + 120,6 Chl a + 2,6 Syn + 100,7 Prok$$

(erregresio-koefizientea 0,86; R²=0,74; errore tipikoa 82,23)

Non:

$PEG = PEG\text{-en kontzentrazioa } (\mu\text{g XG bk}\cdot\text{L}^{-1})$

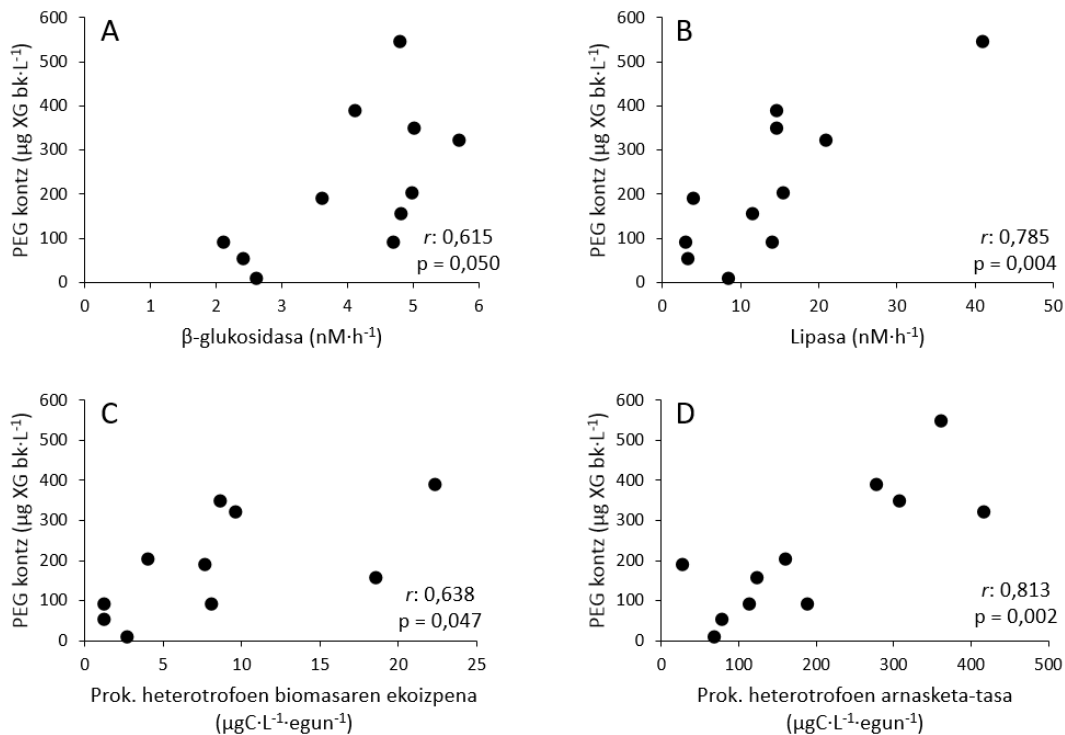
$Chl\ a = a\ \text{klorofilaren kontzentrazioa } (\text{mg}\cdot\text{m}^{-3})$

$Syn = Synechococcus\text{-en dentsitatea } (\times 10^3\ \text{zel}\cdot\text{mL}^{-1})$

$Prok = \text{Prokariotoen dentsitatea } (\times 10^6\ \text{zel}\cdot\text{mL}^{-1})$

Azkenik, PEG-en kontzentrazioaren eta prokariotoek burutzen dituzten hiru prozesu fisiologiko nagusien (zelulaz kanpoko polimeroen hidrolisia, biomasaren ekoizpena eta arnasketa) arteko korrelazioa aztertu zen. Azterturiko zelulaz kanpoko jardura entzimatikoei dagokienez, bai β -glukosidasa bai lipasa jardueren abiadurek erlazio positiboki esanguratsua eta estua izan zuten PEG-en kontzentrazioarekin (4A eta 4B irudiak). Bestaldekik, PEG-en kontzentrazioa eta prokarioto heterotrofoen biomasaren ekoizpen-abiadura positiboki erlazionatuta zeudela ikusi zen (4C irudia) eta baita arnasketa-abiadura ere (4D irudia). Emaitza hauek guztiek agerian utzi zuten prokarioto heterotrofoek aktiboki kolonizatzen dituztela partikula exopolimerikoak beraietatik erauzi ditzaketen elikagaiak erabiltzeko, modu honetan beraien metabolismoa piztuz.

4. irudia. PEG-en kontzentrazioaren korrelazioa prokarioto heterotrofoek burutzen dituzten hiru prozesu fisiologiko nagusiekin: zelulaz kanpoko jardura entzimatioak, biomasaren ekoizpena eta arnasketa.



4. Ondorioak

Lan honetan lortutako emaitzen arabera, a klorofiladun fitoplanktonaren azaleratzeak (*Synechococcus* barne) PEG-en sorrerarekin edota hedapenarekin erlazionatuta daudela ikusi da. Era berean, prokariotoen hazkuntza ere susta dezaketela behatu da, PEG-en kontzentrazioaren eta prokarioto heterotrofoen dentsitatearen arteko korrelazio positiboari erreparatuz. Are gehiago, lau

aldagai hauen bilakaeran oinarrituriko eredu iragarriak partikula exopolimerikoen kontzentrazioaren aldakortasunaren %86-a azaltzen du.

Azkenik, prokariotoek buruturiko prozesu fisiologikoek PEG-en kontzentrazioaren emendioaren aurrean izan duten erantzunak agerian utzi du elkarrekintza aktibo dagoela beraien artean. Zelulaz kanpoko jarduera entzimatiakoen handipena ikusi da, partikula organiko hauek mikroorganismoen hazkuntza ahalbidera dezaketen substratuen iturri gisa joka dezaketela iradokiz. Horrez gain, substratu hauen degradazioak prokariotoen biomasaren ekoizpena eta arnasketa bultzatuz ditzake, bi aldagai metaboliko hauen eta PEG-en kontzentrazioaren arteko korrelazio positiboan islatu dena.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

2018ko uztailaz geroztik laginketak egiten jarraitu dugu aldagai biologiko zein fisiko-kimiko eta PEG-en kontzentrazioak neurtuz datu base handiagoa lortzeko helburuarekin. Datu gehiago edukitzeak, bibliografian deskribatuta dauden eta jada antzeman ditugun korrelazioak aurkitzeko aukera eman diezaguke, baita proposaturiko eredu iragarria hobetzeko aukera ere.

6. Erreferentziak

- Allredge, A. L., Passow, U., and Logan, B. E. (1993), The abundance and significance of a class of large, transparent organic particles in the ocean, *Deep. Res., Part I* 40, 1131–1140.
- Bar-Zeev, E., Berman, T., Rahav, E., Dishon, G., Herut, B., Kress, N., et al. (2011), Transparent exopolymer particle (TEP) dynamics in the eastern Mediterranean Sea, *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 431, 107–118.
- Beauvais, S., Pedrotti, M. L., Villa, E., and Lemée, R. (2003), Transparent exopolymer particle (TEP) dynamics in relation to trophic and hydrological conditions in the NW Mediterranean Sea, *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 262, 97–109.
- Berman, T. (2013), Transparent exopolymer particles as critical agents in aquatic biofilm formation: implications for desalination and water treatment, *Desalin. Water Treat.*, 51, 1014–1020
- Bhaskar, P. V., and Bhosle, N. B. (2006), Dynamics of transparent exopolymeric particles (TEP) and particle-associated carbohydrates in the Dona Paula bay, west coast of India, *J. Earth Syst. Sci.*, 115, 403–413.
- Busch, K., Endres, S., Iversen, M. H., Michels, J., Nöthig, E.-M., and Engel, A. (2017), Bacterial Colonization and Vertical Distribution of Marine Gel Particles (TEP and CSP) in the Arctic Fram Strait, *Front. Mar. Sci.*, 4, 1–14.
- Dreshchinskii, A., and Engel, A. (2017), Seasonal variations of the sea surface microlayer at the Boknis Eck Times Series Station (Baltic Sea), *J. Plankton Res.*, 39, 943–961.
- Guerrini, F., Mazzotti, A., Boni, L., and Pistocchi, R. (1998), Bacterial–algal interactions in polysaccharide production, *Aquat. Microb. Ecol.*, 15, 247–253.
- Ortega-Retuerta, E., Reche, I., Pulido-Villena, E., Agustí, S., and Duarte, C. M. (2009), Uncoupled distributions of transparent exopolymer particles (TEP) and dissolved carbohydrates in the Southern Ocean, *Mar. Chem.*, 115, 59–65.
- Ortega-Retuerta, E., Duarte, C. M., and Reche, I. (2010), Significance of bacterial activity for the distribution and dynamics of transparent exopolymer particles in the Mediterranean Sea, *Microb. Ecol.*, 59, 808–818.
- Parinos, C., Gogou, A., Krasakopoulou, E., Lagaria, A., Giannakourou, A., Karageorgis, A. P., et al. (2017), Transparent Exopolymer Particles (TEP) in the NE Aegean Sea frontal area: Seasonal dynamics under the influence of Black Sea water, *Cont. Shelf Res.*, 149, 112–123.
- Passow, U., and Allredge, A. L. (1994), Distribution, size and bacterial colonization of transparent exopolymer particles (TEP) in the ocean, *Mar. Ecol. Prog., Ser.*, 113, 185–198.
- Passow, U., and Allredge, A. L. (1995). Aggregation of a diatom bloom in a mesocosm: The role of transparent exopolymer particles (TEP), *Deep. Res. Part II* 42, 99–109.

- Passow, U. (2002), Transparent Exopolymer Particles in Aquatic Environments, *Prog. Oceanogr.*, 55, 287–333.
- Porter, K. G., and Feig, Y. S. (1980), The use of DAPI for identifying aquatic microflora, *Limnol. Oceanogr.*, 25, 943–948.
- Scoullou, M., Plavšić, M., Karavoltsos, S., and Sakellari, A. (2006), Partitioning and distribution of dissolved copper, cadmium and organic matter in Mediterranean marine coastal areas: The case of a mucilage event, *Estuar, Coast. Shelf Sci.*, 67, 484–490.
- Simon, M., Grossart, H.-P., Schweitzer, B., Ploug, H. (2002), Microbial ecology of organic aggregates in aquatic ecosystems, *Aquat. Microb. Ecol.*, 28, 175–211.
- Smith, D.C., Simon M., Alldredge, A.L., Azam, F. (1992), Intense hydrolytic enzyme activity on marine aggregates and implications for rapid particle dissolution, *Nature*, 359, 139-142.
- Taylor, J. D., Cottingham, S. D., Billinge, J., and Cunliffe, M. (2014), Seasonal microbial community dynamics correlate with phytoplankton-derived polysaccharides in surface coastal waters, *ISME J.*, 8, 245–248.
- Wurl, O., Ekau, W., Landing, W. M., and Zappa, C. J. (2017), Sea surface microlayer in a changing ocean – A perspective, *Elem. Sci. Anth.*, 5, 31.

7. Eskerrak eta oharrak

Lan hau Zientzia eta Berrikuntza Ministeritzako CTM2016-75699-R (Enzimas Extracelulares y Cambio Climático en Aguas) eta Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitateko GIU17/043 proiektuen barruan burutu da. Era berean, Ainara Martínez-en laguntza eskertzen dugu.